

**AKTIVITAS *Fusarium oxysporum* DALAM MENGHIDROLISIS
ECENG GONDOK (*Eichhornia crassipes*) DENGAN
VARIASI TEMPERATUR**

(Activity of *Fusarium oxysporum* to Hydrolysis Water Hyacinth
(*Eichhornia crassipes*) with Variation Temperature)

¹Noermala S. Rosdiana, Purbowatiningrum R. Sarjono, Nies S. Mulyani

¹Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Matematika
Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

¹Email: mala_kim08@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) dengan variasi temperatur. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan *Fusarium oxysporum* yang telah diadaptasikan pada media fermentasi eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) dan mendapatkan data kadar gula pereduksi dari aktivitas selulolitik *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) pada temperatur optimum. Aktivitas *Fusarium oxysporum* didasarkan pada besar kecilnya kadar gula pereduksi yang dihasilkan dari proses hidrolisis eceng gondok. Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap yaitu peremajaan *Fusarium oxysporum* ke media PDB (*Potato Dextrose Broth*), pengadaptasian *Fusarium oxysporum* ke media fermentasi CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*), delignifikasi (penghilangan lignin dari eceng gondok), pengadaptasian *Fusarium oxysporum* ke media fermentasi eceng gondok, pembuatan kurva standar glukosa, fermentasi *Fusarium oxysporum* dalam media fermentasi eceng gondok dengan variasi temperatur, dan uji aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok dengan variasi temperatur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Fusarium oxysporum* mampu tumbuh pada media fermentasi eceng gondok dan mampu mendegradasi eceng gondok menjadi gula pereduksi. Aktivitas tertinggi *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok terjadi pada temperatur optimum 30°C dengan kadar gula pereduksi yang dihasilkan sebesar 0,308 mg/mL.

Kata kunci: Selulosa, Eceng Gondok, *Fusarium oxysporum*, Delignifikasi

ABSTRACT

Research Has done about activity of *Fusarium oxysporum* to hydrolysis water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) with variation temperature. This research aimed to getting *Fusarium oxysporum* were adapted on water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) fermentation media and it getting the data reducing sugar value of cellulolytic activity from *Fusarium oxysporum* that can hydrolysis of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) on the optimum temperature. Activity of *Fusarium oxysporum* based on the size of the level reducing sugars resulting from the hydrolysis of water hyacinth. The study was conducted in several step that is rejuvenating of *Fusarium oxysporum* to PDB (*Potato Dextrose Broth*), adaptation of *Fusarium oxysporum* to fermentation media CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*), delignification (lignin removal from water hyacinth), adaptation of *Fusarium oxysporum* to water hyacinth fermentation media, creating a standard curve of glucose, fermentation of *Fusarium oxysporum* in water hyacinth fermentation media with variation in temperature, and testing activities *Fusarium oxysporum* to hydrolyze water hyacinth with variation in temperature. The result shows that *Fusarium oxysporum* can grow in fermentation media of water hyacinth and it can degrade water hyacinth to reduction sugar. The higher activity from *Fusarium oxysporum* to produce cellulose for hydrolysis cellulose of water hyacinth

happened in optimum temperature 30°C that result reduction sugars 0,308 mg/mL from 0,25 gram dry water hyacinth.

Keyword: Cellulose, Water Hyacinth, *Fusarium oxysporum*, Delignification

I. PENDAHULUAN

Selulosa merupakan polimer lurus dari 1,4'- β -D-glukosa (Fessenden dan Fessenden, 1992) atau polimer lurus dari selobiosa (dimer glukosa-glukosa) yang tidak bercabang dan saling berikatan (Taherzadeh dan Karimi, 2007). Selulosa merupakan sumber bioenergi yang dapat diperbaharui (Ja'afaru dan Faagade, 2010; Mathew dkk., 2008) dan dapat dimanfaatkan sebagai substrat enzim selulase.

Salah satu sumber selulosa yang melimpah di alam adalah eceng gondok. Eceng gondok memiliki bobot kering selulosa 21,5%, hemiselulosa 33,9% dan lignin 7,01%. Kandungan selulosa dan lignoselulosa di dalam eceng gondok dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembuat kertas, sebagai bahan pembuat bioetanol (Artati dkk., 2009) dan sebagai bahan baku di industri tekstil. Selain itu, di bidang bioteknologi eceng gondok dapat bermanfaat sebagai sumber alternatif lignoselulosa (Deshpande dkk., 2008) dan sebagai substrat untuk media pertumbuhan mikroorganisme.

Kandungan lignin dalam eceng gondok yang berikatan kuat dengan selulosa harus dihilangkan terlebih dahulu agar diperoleh selulosa bebas lignin dan dapat dimanfaatkan lebih lanjut. Proses penghilangan lignin dari selulosa disebut delignifikasi (Jalaludin dan Rizal, 2005; Artati dkk., 2009). Delignifikasi dilakukan untuk menghilangkan lignin yang dapat menghambat proses hidrolisis selulosa oleh mikroba. Proses delignifikasi dapat dilakukan dengan menggunakan larutan alkali, seperti NaOH.

Proses hidrolisis selulosa dapat dilakukan dengan bantuan

mikroorganisme selulolitik salah satunya adalah *Fusarium oxysporum*. *Fusarium oxysporum* diketahui memiliki kemampuan dalam mendegradasi selulosa karena dapat menghasilkan enzim selulase. Enzim selulase dapat memutus ikatan β -1,4-glikosida pada rantai selulosa sehingga membentuk monomer glukosa.

Aktivitas *Fusarium oxysporum* dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti temperatur. Penelitian sebelumnya, Ramanathan dkk., (2010) telah membuktikan bahwa *Fusarium oxysporum* mampu tumbuh optimum dan dapat memproduksi enzim selulase pada temperatur 50°C dengan waktu fermentasi optimum selama 8 hari, sedangkan Farooq dkk., (2005) dan Khilare dkk., (2012) telah membuktikan bahwa *Fusarium oxysporum* mampu tumbuh optimum pada temperatur 30°C dengan waktu fermentasi optimum selama 7 hari. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan *Fusarium oxysporum* yang telah diadaptasikan pada media fermentasi eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) dan mendapatkan data kadar gula pereduksi dari aktivitas selulolitik *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) pada temperatur optimum.

II. METODOLOGI

II.1 Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas alat-alat gelas laboratorium, neraca analitik, spiritus, kawat ose, micropipette (Eppendorf), shaker (TS-330 A), autoklaf (Clinical Autoclave Prestige Medical series 2100), autoklaf (Napco model 8000-

DSE autoclave), dan spektrofotometer *UV-VIS (Simadzu)*.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas *Fusarium oxysporum*, kentang, gula dekstrosa, *bacto agar*, natrium asetat, asam asetat 0,05 M, buffer asetat 0,05 M pH 6, CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*), eceng gondok, pepton, *yeast*, besi (II) sulfat (FeSO_4), magnesium sulfat (MgSO_4), kalsium sulfat (CaCl_2), ammonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), natrium hidroksida (NaOH), DNS (*Dinitrosalicylic acid*), fenol, K-Na Tartrat, natrium sulfat (Na_2SO_3), glukosa dan akuades.

II.2 Peremajaan *Fusarium oxysporum* ke Media PDB (*Potato Dextrose Broth*)

Isolat *Fusarium oxysporum* diinokulasikan ke dalam media cair PDB yang telah disiapkan. Media PDB yang berisi isolat *Fusarium oxysporum* selanjutnya diinkubasi selama 168 jam di dalam inkubator *shaker* pada temperatur 30°C.

II.3 Pengadaptasian *Fusarium oxysporum* ke Media Fermentasi CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*)

Isolat *Fusarium oxysporum* diinokulasikan ke dalam media fermentasi CMC yang telah disiapkan. Media CMC yang berisi isolat *Fusarium oxysporum* selanjutnya diinkubasi selama 168 jam di dalam inkubator *shaker* pada temperatur 30°C.

II.4 Delignifikasi Eceng Gondok

Eceng gondok dikeringkan kemudian diblender hingga halus, kemudian dimasak dalam larutan NaOH selama 4 jam pada temperatur 90°C. Eceng gondok yang telah didelignifikasi kemudian dicuci hingga pH netral. Eceng gondok disaring dan residunya dikeringkan kemudian dihaluskan dan diayak hingga berukuran 100 Mesh.

II.5 Uji Kualitatif Lignin dalam Eceng Gondok Hasil Delignifikasi dengan FeCl_3

Uji kualitatif lignin dilakukan dengan menyaring air hasil delignifikasi eceng gondok ditambahkan dengan larutan FeCl_3 . Sebagai pembanding dilakukan pengujian lignin pada air hasil pencucian eceng gondok yang telah netral. Uji positif adanya lignin pada air sisa delignifikasi ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi merah bata pada larutan sampel yang diuji.

II.6 Pengadaptasian *Fusarium oxysporum* ke Media Fermentasi Eceng Gondok

Isolat *Fusarium oxysporum* diinokulasikan ke dalam media fermentasi eceng gondok. Media fermentasi eceng gondok yang berisi isolat *Fusarium oxysporum* selanjutnya diinkubasi selama 168 jam di dalam inkubator *shaker* pada temperatur 30°C.

II.7 Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Larutan standar glukosa dibuat dengan variasi konsentrasi 0,10 mg/mL, 0,15 mg/mL, 0,20 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,30 mg/mL, 0,40 mg/mL, dan 0,50 mg/mL. Tambahkan 1 mL reagen DNS pada masing-masing larutan yang telah disiapkan. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer *UV-VIS* pada panjang gelombang 489 nm.

II.8 Fermentasi *Fusarium oxysporum* pada Media Fermentasi Eceng Gondok dengan Variasi Temperatur

Penentuan pengaruh variasi temperatur pada aktivitas hidrolisis selulosa eceng gondok oleh *Fusarium oxysporum* dilakukan dengan menyiapkan Erlenmeyer yang berisi 25 mL media eceng gondok dalam buffer asetat pH 6 yang sudah disterilkan. Sebanyak 1% inokulum ditempatkan secara aseptik ke dalam Erlenmeyer

tersebut. Erlenmeyer selanjutnya diinkubasi selama 7 hari. Variasi temperatur dilakukan pada temperatur 30°C, 35°C, 40°C. Hasil fermentasi selanjutnya diuji kadar gula pereduksinya dengan menggunakan metode DNS (*Dinitrosalicylic acid*).

II.9 Penentuan Aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam Menghidrolisis Eceng Gondok dengan Metode DNS (*Dinitrosalicylic acid*)

Penentuan aktivitas *Fusarium oxysporum* dilakukan dengan mencampurkan larutan hasil fermentasi dari masing-masing sampel dengan larutan DNS. Pengukuran absorbansi sampel dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum 489 nm. Nilai absorbansi sampel yang diperoleh selanjutnya diplotkan ke dalam persamaan kurva standar glukosa sehingga dihasilkan kadar gula pereduksi sampel.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN salah satunya dengan perlakuan alkali

III.1 Peremajaan *Fusarium Oxysporum* ke Media PDB (*Potato Dextrose Broth*)

Pada media PDB, mikroorganisme dapat bergerak lebih bebas untuk melakukan perkembangan biakan karena fase media berbentuk cair. Ruang gerak mikroorganisme untuk tumbuh dan mencari nutrisi makanan lebih luas, sehingga pertumbuhan mikroorganisme dapat lebih cepat terjadi di media PDB dari pada di media PDA. Selain itu, media PDB juga berperan dalam proses pengaktifan mikroba yang berasal dari stok agar miring sehingga mikroba tersebut lebih siap digunakan untuk proses produksi. Hasil positif tumbuhnya *Fusarium oxysporum* ditandai dengan terbentuknya warna ungu di dinding Erlenmeyer.

III.2 Pengadaptasian *Fusarium*

***oxysporum* ke Media Fermentasi CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*)**

Media fermentasi CMC mengandung nutrisi tambahan yang dapat digunakan oleh *Fusarium oxysporum* untuk berkembang biak, seperti *yeast*, pepton, ammonium sulfat ((NH₄)₂SO₄), kalsium klorida (CaCl₂), magnesium sulfat (MgSO₄), dan besi (II) Sulfat (FeSO₄). Hasil positif adanya pertumbuhan *Fusarium oxysporum* ditandai dengan terbentuknya misellium berwarna putih yang mengendap pada dasar Erlenmeyer.

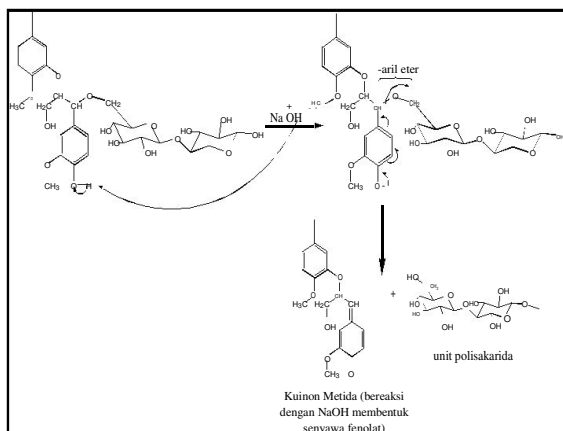
III.3 Delignifikasi dan Uji Kualitatif Lignin dalam Eceng Gondok Hasil Delignifikasi

Delignifikasi merupakan proses penghilangan lignin. Lignin merupakan polimer fenol yang terdapat dalam dinding sel tumbuhan. Pada dinding sel tumbuhan, lignin berikatan kuat dengan selulosa membentuk lignoselulosa. Lignin dapat dihilangkan atau dikurangi menggunakan NaOH. Lignin dalam larutan NaOH akan membentuk garam fenolat yang larut dalam air. Apabila Garam fenolat tersebut terbentuk maka ikatan antara selulosa dengan lignin akan lepas sehingga diperoleh selulosa dalam keadaan bebas lignin.

Uji kualitatif lignin bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya lignin yang tersisa di dalam eceng gondok setelah didelignifikasi. Hasil uji dengan larutan FeCl₃ membentuk warna merah bata. Lignin positif berada di dalam filtrat sisa proses delignifikasi. Hal ini disebabkan karena lignin di dalam eceng gondok telah terlarut dalam larutan NaOH membentuk suatu garam fenolat yang dapat larut dalam air (Harborne, 1987). Warna merah bata yang terbentuk setelah penambahan FeCl₃ ke dalam filtrat hasil penyaringan eceng gondok yang didelignifikasi

merupakan kompleks Fe-Fenolat yang dihasilkan dari reaksi FeCl_3 dengan garam fenolat.

Mekanisme reaksi pemutusan ikatan lignin dengan selulosa tersaji pada gambar III.1



Gambar III.1 Mekanisme reaksi pemutusan ikatan lignin dengan selulosa

III.4 Pengadaptasian *Fusarium oxysporum* ke Media Fermentasi Eceng Gondok

Sumber karbon atau selulosa yang digunakan pada media fermentasi eceng gondok berasal dari eceng gondok hasil delignifikasi. Selulosa dalam eceng gondok hasil delignifikasi berperan sebagai substrat enzim selulase yang diproduksi oleh *Fusarium oxysporum*.

Fusarium oxysporum mampu tumbuh dengan baik pada media fermentasi eceng gondok. Hal ini ditandai dengan adanya misellium berwarna putih di dalam media fermentasi seperti pada media CMC.

III.5 Uji Aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam Menghidrolisis Eceng Gondok dengan Variasi Temperatur

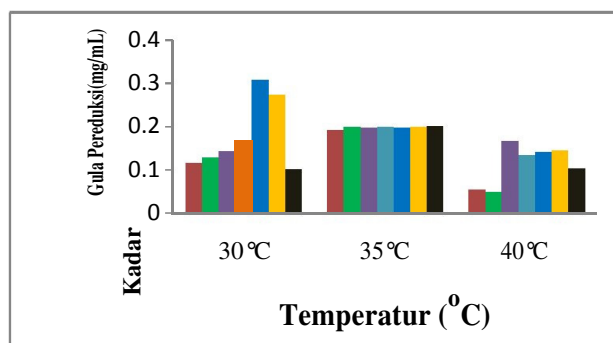
Aktivitas *Fusarium oxysporum* didasarkan pada kemampuan *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok menjadi monomer karbohidrat. Pada penelitian ini, proses hidrolisis

eceng gondok dapat berlangsung dengan bantuan enzim yang disekresikan oleh *Fusarium oxysporum*. Salah satu enzim yang dapat disekresikan oleh *Fusarium oxysporum* untuk menghidrolisis eceng gondok adalah enzim selulase. Enzim selulase bekerja dengan memutus ikatan β -1,4-glikosida pada rantai selulosa hingga menghasilkan monomer glukosa.

Aktivitas *Fusarium oxysporum* diamati berdasarkan jumlah kadar gula pereduksi yang dihasilkan sebagai produk dari reaksi hidrolisis. Semakin besar kadar gula pereduksi yang dihasilkan maka semakin besar pula aktivitas *Fusarium oxysporum* yang terjadi. Kadar gula pereduksi ditentukan dengan metode pengukuran gula pereduksi menggunakan metode DNS (Miller, 1959).

Kadar gula pereduksi dari aktivitas *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok dengan variasi temperatur dan waktu fermentasi dapat disajikan pada gambar III.2.

Berdasarkan gambar III.2 dapat terlihat bahwa kadar gula pereduksi optimum dihasilkan pada temperatur 30°C sebesar $0,308 \text{ mg/mL}$. Gula pereduksi tersebut merupakan hasil hidrolisis dari eceng gondok sebanyak $0,25 \text{ gram}$ dalam 25 mL media fermentasi eceng gondok.



Gambar III.2 Kadar Gula Pereduksi pada berbagai Variasi Temperatur

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan pembahasan yang telah dipaparkan, dapat disimpulkan bahwa *Fusarium oxysporum* dapat tumbuh di media fermentasi eceng gondok dan mampu mendegradasi eceng gondok menjadi gula pereduksi. Aktivitas tertinggi *Fusarium oxysporum* dalam menghidrolisis eceng gondok terjadi pada temperatur optimum 30°C dengan kadar gula pereduksi yang dihasilkan sebesar 0,308 mg/mL dari 0,25 gram eceng gondok kering.

DAFTAR PUSTAKA

- Artati, E.K., Efendi, A., Haryanto, T., 2009, Pengaruh Konsentrasi Larutan Pemasak pada Proses Delignifikasi Eceng Gondok dengan Proses Organosolv, *Ekuilibrium*, 8 (1), 25-28
- Deshpande, S.K., Bhotmange, M.G., Chakrabarti, T., dan Shastri, P.N., 2008, Production of Cellulose and Xylanase by *Trichoderma reesei* (QM 9414 mutant), *Aspergillus niger* and Mixed Culture by Solid State Fermentation (SSF) of Water Hyacinth (*Eichornia crassipes*), *Indian J. Chem. Technol.*, 15, 449-456
- Farooq, S., Iqbal, M., dan Rauf, A., 2005, Physiological Studies of *Fusarium oxysporum* F. Sp. *Ciceri*, *Int. J. Agri. Biol.*, 7 (2), 275-277
- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S., 1992, *Kimia Organik*, Jilid 2, Edisi ke-3, 353, Erlangga, Jakarta
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, Alih Bahasa: Dr. Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, 47 – 51, Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Jalaludin., dan Rizal, S., 2005, Pembuatan Pulp dari Jerami Padi dengan Menggunakan Natrium Hidroksida, *Jurnal Sistem Teknik Industri*, 6 (5), 53-56
- Ja'afaru, M.I., dan Fagade, O.E., 2010, Optimization studies on cellulase enzyme production by an isolated strain of *Aspergillus niger* YL128, *African Journal of Microbiology Research*, 4 (24), 2635-2639
- Khilare, V.C., dan Rafi, A., Effect of Different Media, pH, and Temperature On The Growth of *Fusarium oxysporum* F. SP. *Ciceri* Causing Chickpea Wilt, *International Journal of Advanced Biological Research*, 2(1), 99-102
- Mathew, G.M., Sukumaran, R.K., Singhanian, R.R., dan Pandey, A., 2008, Progress in Research on Fungal Cellulases for Lignocellulose Degradation, *J. Sci. Ind. Res.*, 67, 898-90
- Miller, G.L., 1959, Use of Dinitrosalicylic Acid Reagen for Determination of Reducing Sugar, *Anal. Chem.*, 31, 426
- Ramanathan, G., Banupriya, S., Abirami, D., 2010, Production and Optimization of Cellulose from *Fusarium oxysporum* by Submerged Fermentation, *J. Sci. Ind. Res.*, 69, 454-459
- Taherzadeh, M.J., dan Karimi, K., 2007, Acid-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials : A Review, *Bioresources*, 2 (3), 472-499